云 南 植 物 研 究 1989，11(3)：276—284
Acta Botanica Yunnanica

云南栽培西洋参皂甙的高压液相色谱定量分析

杨崇仁 姚荣成 阮德椿 陈宗莲
（中国科学院昆明植物研究所，昆明）
山口启之
（日本涌永制药（株）中央研究所）

摘要 采用N-18ODS柱，以CH_3CN：H_2O(31：69 v/v)中加入50mM KH_2PO_4和CH_3CN：H_2O：H_3PO_4(20：80：0.5 v/v）为流动相，在202 nm紫外吸收波长检测下，测定了云南丽江引种栽培的西洋参中丙二酸人参皂甙（malonyl ginsenoside）Rb1、Rb2、Rc、人参皂甙(ginsenoside) Rb1、Rb2、Rc、Rd、Ro和Re、Rg1等10种主要皂甙的含量，讨论了不同的栽培年代、采收季节、地下部位以及商品等级中皂甙含量的变化，对该地区西洋参的生产提出了建议。

关键词 西洋参；高效液相色谱；人参皂甙

近年植物配糖体的高效液相色谱（HPLC）分析有显著进展。Yamaguchi 和 Kasai 等用离子交换色谱法[1]以及羟基磷灰石（Hydraxyapatite，$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ 为填料的色谱柱分离了各种二萜和三萜配糖体[2]，最近Yamaguchi等用ODS柱或氨基键合柱，以含KH_2PO_4或H_3PO_4的缓冲液为移动相[3]，周志华等用氨基键合柱以甲醇-乙腈-乙二醇-醋酸铵为移动相[4]成功地分离了多种人参皂甙，为皂甙成分的定量分析提供了简易、快速可靠的方法。本文在上述工作的基础上，用山口（Yamaguchi）法对云南引种栽培西洋参(*Panax quinquefolium* L.)的10种主要皂甙成分进行了定量分析，并比较了在同一栽培条件下，各种人参皂甙随不同种植年代、采收季节、地下部位以及不同商品等级的变化，对该地区西洋参的生产提出了建议。

实 验 部 分

仪器试剂及样品来源

高压液相色谱仪TRIROTAR-Ⅱ（日本），紫外检测器SPD-2A（日本岛津），灵敏度0.16 Aufs，波长202 nm；色谱柱：ulfron N-18(5 μm) ϕ 4.6×150 mm，(Chromato Packings Center，日本京都）；色谱试剂：CH_3CN，KH_2PO_4，H_3PO_4 分析纯

1988-08-22收稿

试剂：重蒸水；分析样品：全部实验材料均采自云南省丽江县拉美容的引种栽培美国西洋参的药圃。

A　　B　　C

			R1	R2
malonyl ginsenoside	Rb1(1)	B	glc(2—1)glc(6)Ma	glc(6—1)glc
malonyl ginsenoside	Rb2(2)	B	glc(2—1)glc(6)Ma	glc(6—1)ara(p)
malonyl ginsenoside	Rc (3)	B	glc(2—1)glc(6)Ma	glc(6—1)ara(f)
ginsenoside	Rb1(4)	B	glc(2—1)glc	glc(6—1)glc
ginsenoside	Rb2(5)	B	glc(2—1)glc	glc(6—1)ara(p)
ginsenoside	Rc (6)	B	glc(2—1)glc	glc(6—1)ara(f)
ginsenoside	Rd (7)	B	glc(2—1)glc	glc
ginsenoside	Re (8)	C	glc(2—1)rha	glc
ginsenoside	Rg1(9)	C	glc	glc
ginsenoside	Ro (10)	A	glcU (2—1)glc	glc

glc：-D-glucopyranosyl　　ara(p)：-L-arabinopyranosyl
ara(f)：-L-arabinofuranosyl　　rha：-L-rhamnopyranosyl
glcu：-D-glucuronic acid　　Ma：malonyl

实验条件与方法

1. 皂甙的提取和制备　恒重干燥的西洋参样品粉末，用甲醇回流提取3次，每次2小时，甲醇提取液合并后于50℃以下减压蒸干，真空干燥至恒重，称取1 g 甲醇提取物，用50 ml水溶解后，通过大孔吸附树酯Diaion HP-20（日本三菱化工）层析柱，以30%甲醇洗脱后继以80%甲醇洗脱，至薄层层析及Libermman反应检查无皂甙，洗脱液减压蒸干，真空干燥至恒重，即为总皂甙。

2. 标准品　称取丙二酸人参皂甙（malonyl gensenoside）Rb1（1）2.22 mg、Rb2（2）2.00 mg、Rc（3）2.00 mg、人参皂甙（ginsenoside）Rb1（4）4.31 mg、Rb2（5）1.94 mg、Rc（6）2.49 mg、Rd（7）1.44 mg和Ro（10）1.93 mg，混合溶于10 ml MeOH中，另称取人参皂甙Re（8）9.56 mg和Rg1（9）9.72 mg 混溶于10 ml 甲醇中，各标准品均由我们在人参属植物皂甙成分的系统研究中分离得到。

3. 分析条件　柱温40℃，流速1.0 ml/min，紫外检测波长 202 nm，灵敏度 0.16 Aufs，记录纸速2.5 mm/min，色谱柱：ulfron N-18（5 μm）。ϕ4.6×150 mm. 流动相：以CH_3CN：H_2O（31：69 v/v）中加入浓度为50 mM的KH_2PO_4 为移动相分离皂

甙1—7和10；另以$CH_3CN : H_2O : H_3PO_4$（20：80：0.5 v/v）为流动相分离皂甙8和9，标准品的分离情况如图2和图3所示。

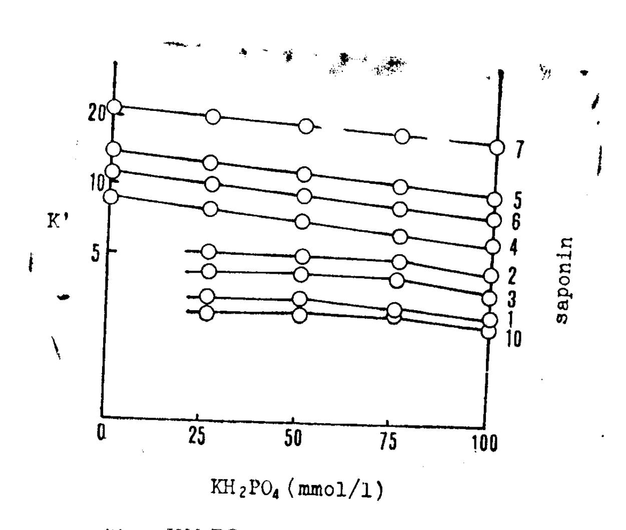


图1 KH_2PO_4的浓度与皂甙保留时间的相关性

Fig. 1 Correlations of KH_2PO_4 concentration and ratio(K') of the saponins

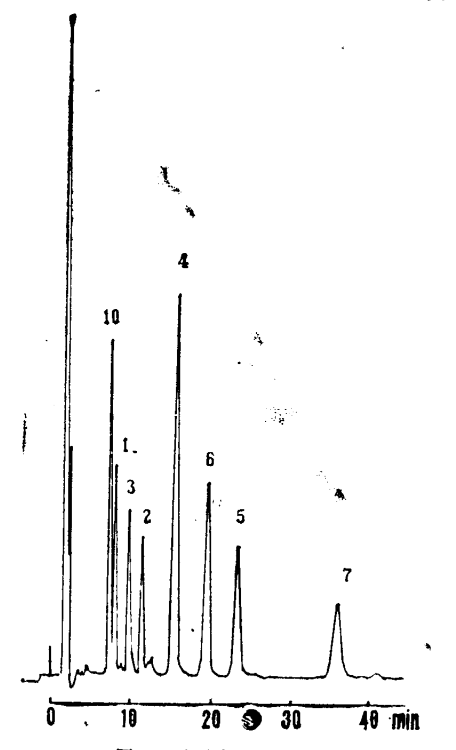


图2 皂甙标准品谱图

Fig. 2 The HPLC chromatogram of *Panax* saponin standards. See table 1 for names of the compounds

Eluents: 50 mM KH_2PO_4 in MeCN: H_2O (31:69) (v/v)

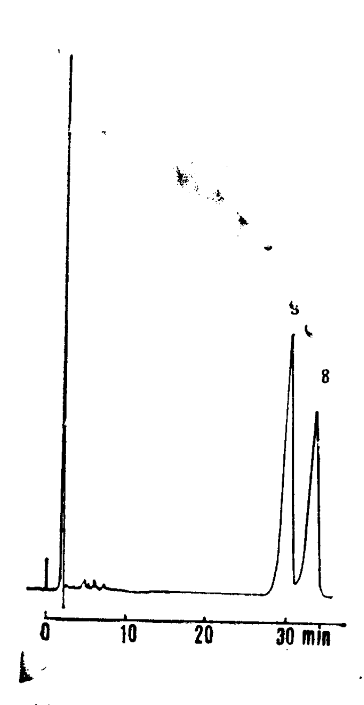


图3 皂甙标准品色谱图

Fig. 3 HPLC chromatogram of *Panax* saponins standards. See table 1 for names of the compounds

Eluents: MeCN: H_2O:H_3PO_4 (20：80：0.5, v/v)

4.试样的测定　精密称取待测总皂甙样品1.51—2.48 mg，分别溶于 1 ml 甲醇中，每次进样量10 μl，每进样三次即注入一次不同体积的标准样品，测定各皂甙的峰高值，在微处理机上用直线回归方程（Load N-L-Mu）程序处理，与标准品数据对照，得到各皂甙的浓度，从而计算得含量。样品分离情况如图 4 和图 5。

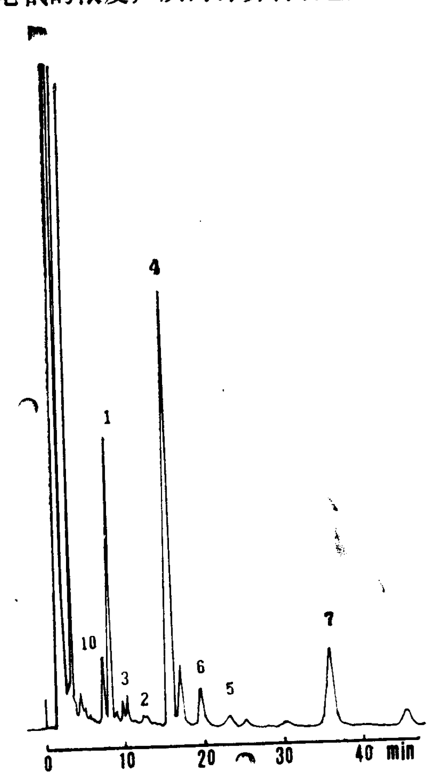


图 4　西洋参样品色谱图

Fig. 4　Representative HPLC chromatogram of the extract of *Panax quinquefolium* Column conditions same as in Fig. 2



图 5　西洋参样品色谱图

Fig. 5　Representative HPLC chromatogram of the extract of *Panax quinquefolium*. Column conditions same as in Fig. 3

5.线性关系及精密度　按以上分离条件，取标准品混合物各2.5、5、7.5、10、15 μl 分别进样多次，测各皂甙峰高值，用计算机处理表明，各皂甙的峰高值与浓度在进样量低于10 μg的范围内呈通过原点的线性关系，相关系数为 r = 0.999—0.9999，皂甙 7 的变异系数c.v = 3.97%，其它皂甙为c.v = 2.0%。

讨　论

1.关于分离条件　我们曾用Pentax柱，Partisil ODS柱，Zorbax ODS柱及UlfronN-18等色谱柱，比较了各种流动相的分离效果，结果以含水乙腈为移动相在Ulfron N-18(5 μm）色谱柱上分离效果较佳，在溶剂中加适量的磷酸或磷酸盐可以调整各皂甙的保留时间。KH_2PO_4添加量与皂甙保留时间的相关性表明，KH_2PO_4的浓度大于50 mM时各皂

甙的容量因子K′值明显降低，而在KH_2PO_4的浓度为50 mM 时各皂甙能达到较好的分离（图1），因而选择了CH_3CN：H_2O（31：69 v/v）中加入50 mM KH_2PO_4为移动相分离皂甙1—7等七个人参二醇型皂甙和齐墩果烷型皂甙10，以CH_3-CN：H_2O：H_3PO_4（20：80：0.5 v/v）缓冲溶液为移动相分离人参三醇型皂甙8和9，在40分钟内可达到满意的分离（图2、3）。

2.不同种植年代皂甙的含量 对种植1年至5年的西洋参分析结果表明，与进口的西洋参皂甙组成是一致的，且均以人参皂甙 Rb1（4）、Re（8）和丙二酸人参皂甙 Rb1（1）为主。此外，四年生西洋参无论是甲醇提取物、总皂甙含量、主要皂甙的总含量均明显高于1—3年生和5年生以及进口西洋参（表1）（图6）。其中1和4的含量分别达到1.66%和2.74%，但人参三醇型皂甙8、9和齐墩果烷型皂甙10的含量则较5年生为低，但单位面积产量却与5年生相近（表2）。显然，无论从生物产量和质量而言，云南丽江地区栽培的西洋参都是优质的，且以种植4年为宜。

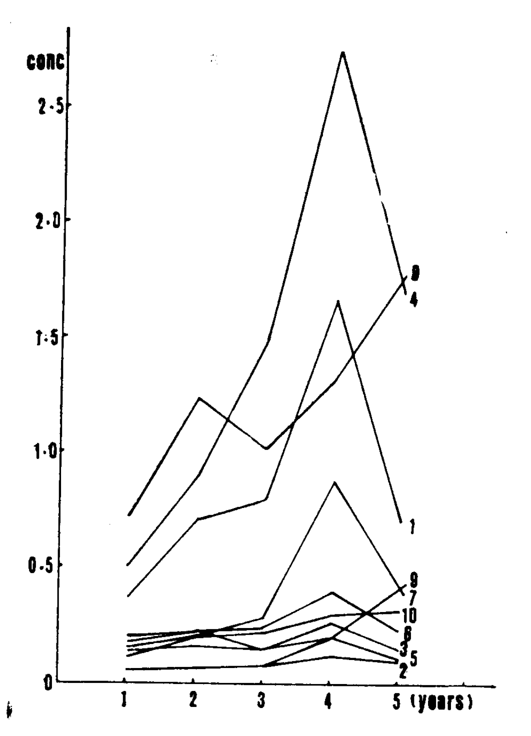


图6 不同种植年代西洋参皂甙的含量变化

Fig. 6 The variances of saponin contents of *P. quinquefolium* with different ages.

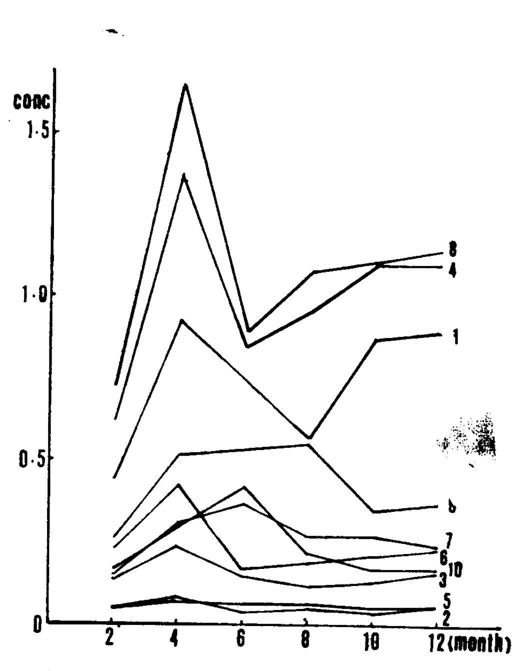


图7 不同采收期西洋参皂甙的含量变化

Fig. 7 The variances of saponin contents of *P. quinquefolium* with different time of havest.

3.不同采收期皂甙的含量 对三年生的西洋参不同采收期皂甙含量的分析结果表明，4月份采收的西洋参总皂甙和主要皂甙的含量均高于其它月份，其中1和8分别高达1.38%和1.65%（图7）（表3）。然而4月份正值西洋参展叶生长期积蓄物质消耗量大，平均单支干重最低，生物产量不高。相对而言，10—11月份植株进入休眠期，积蓄物质达到年中最高水平，虽总皂甙和主要皂甙的含量略次于4月份，但生物产量最

高，这一时期采收更有经济意义（表4）。

表1　不同种植年代西洋参的皂甙组成

Table 1　Comparison of saponin contents (% of dry material) of *P. quinquefolium* with different growth years (collected in October)

saponin	growth/year 1	2	3	4	5
1	0.37	0.71	0.80	1.66	0.68
2	0.06	0.07	0.08	0.12	0.10
3	0.13	0.16	0.15	0.26	0.15
4	0.51	0.90	1.49	2.74	1.69
5	0.06	0.07	0.08	0.20	0.11
6	0.21	0.23	0.25	0.40	0.23
7	0.16	0.21	0.29	0.88	0.42
8	0.72	1.24	1.02	1.32	1.77
9	0.19	0.23	0.15	0.20	0.42
10	0.12	0.20	0.22	0.30	0.32
total saponin	2.53	4.02	4.53	8.08	5.89
yield of crude saponin	3.35	4.14	5.33	8.21	6.36
yield of MeOH ext.	35.20	36.05	41.12	48.58	31.17
matarial (g)	8.48	22.18	20.37	7.41	31.01

表2　不同种植年代西洋参的平均生物产量

Table 2　The average bio-velocity of *P. quinquefolium* with different growth years (collected in Oct., 1987)

	plant number in every m^2	fresh wt g/m^2	dry wt g/m^2	average dry wt g/plant	fresh:dry
1 year	140	98.4	26.6	0.19	3.70：1
2 years	86	378.3	106.6	1.24	3.55：1
3 years	52	432.4	125.3	2.41	3.45：1
4 years	34	793.6	236.9	6.97	3.35：1
5 years	24	826.1	250.3	10.43	3.30：1

4.不同地下部位皂甙含量的变化　对主根、根茎和侧根不同部位皂甙含量的分析表明（表5），地下部分各部位的皂甙组成是一致的，皂甙含量以主根为高，其次为侧根，根茎部分的皂甙含量较低。主根中皂甙4和1的含量分别达到2.74%和1.66%，而侧根则以皂甙8的含量最高，达到1.81%。

表 3 不同采收期西洋参的皂甙组成

Table 3 Comparison of saponin contents (% of dry material) of the 3 years old *P. quinquefolium* with different time of harvest

Saponin	Feb.	Apr.	Jun.	Aug.	Oct.	Dec.
1	0.44	0.93	0.75	0.57	0.87	0.89
2	0.05	0.07	0.06	0.06	0.05	0.06
3	0.14	0.24	0.15	0.12	0.13	0.16
4	0.62	1.38	0.85	0.96	1.10	1.10
5	0.05	0.08	0.04	0.05	0.05	0.06
6	0.23	0.43	0.17	0.19	0.21	0.23
7	0.15	0.31	0.37	0.27	0.27	0.24
8	0.72	1.65	0.90	1.08	1.11	1.14
9	0.26	0.52	0.53	0.55	0.35	0.37
10	0.17	0.30	0.42	0.22	0.17	0.17
total saponin	2.83	5.91	4.24	4.07	4.31	4.42
yield of crude saponin	3.17	6.42	4.33	4.86	4.81	4.71
yield of MeOH ext.	36.87	36.66	20.25	31.26	33.40	34.28
material (g)	8.41	7.82	15.74	30.77	29.04	40.00

表 4 不同采收期西洋参的平均生物产量

Table 4 The average bio-velocity of the 3-year-old *P. quinquefolium* with different time of harvest

collected period	phenologic period	lengh of total roots cm	lengh of main roots cm	diameter of main roots cm	average wt of dry plant g
Fab. 26	rest period	11.4	4.7	0.6	0.48
Apr. 29	leafing period	12.9	5.2	0.6	0.45
Jun. 30	flowering period	13.0	5.8	0.7	1.32
Aug. 20	fruiting period	13.2	6.4	0.7	2.56
Oct. 23	rest period	13.8	6.8	0.82	3.51
Dec. 25	rest period	14.7	8.7	1.0	3.82

表 5　不同地下部位西洋参的皂甙组成

Table 5　Comparison of saponin contents (% of dry material) of 4-year-old *P. quinquefolium* with different underground parts

saponin	main roots	rhizomes	laterial roots
1	1.66	0.96	0.98
2	0.12	0.13	0.12
3	0.26	0.16	0.42
4	2.74	0.73	1.26
5	0.20	0.02	0.07
6	0.40	0.04	0.62
7	0.88	0.31	0.59
8	1.32	0.82	1.81
9	0.20	0.08	0.21
10	0.30	0.48	0.11
total saponin	8.08	3.73	6.19
yield of crude saponin	8.21	6.47	9.23
yield of MeOH ext.	48.58	37.84	34.45
material (g)	7.41	47.50	142.93

表 6　不同商品等级西洋参的皂甙组成

Table 6　Comparison of saponin contents (% of dry material) of *P. quinquefolium* with different commercial grades on the market

saponin	1st	2nd	3rd	4th	5th	imp.
1	0.54	0.93	0.78	1.34	1.39	0.34
2	0.06	0.03	0.04	0.04	0.09	+
3	0.08	0.11	0.14	0.28	0.35	0.09
4	0.65	0.98	0.70	1.40	1.02	1.40
5	0.03	0.05	0.04	0.08	0.03	0.08
6	0.12	0.13	0.14	0.29	0.26	0.22
7	0.08	0.14	0.12	0.32	0.37	0.28
8	0.57	0.86	0.96	1.25	1.10	0.90
9	0.15	0.27	0.29	0.36	0.31	0.31
10	0.12	0.19	0.14	0.27	0.16	0.14
total saponin	2.40	3.69	3.35	5.63	5.08	3.76
yield of crude saponin	2.93	4.27	3.90	6.42	6.31	4.78
yield of MeOH ext.	40.76	39.52	38.25	43.35	40.98	31.43
material (g)	25.88	31.67	24.32	24.55	23.63	11.18

5.不同商品等级皂甙含量的变化 市售的西洋参生药，通常按支头的大小、粗壮程度等分为若干商品等级，以一级品价格最昂。对六种不同商品等级西洋参的皂甙含量进行比较分析（表6），其中4级和5级的皂甙含量均高于其它等级，皂甙1的含量分别为1.34%和1.39%，皂甙4的含量分别为1.40%和1.02%，皂甙8的含量分别为1.25%和1.10%，而一级品的皂甙含量反而最低。这可能是由于皂甙主要是存在于西洋参根部的表皮层中，而商品等级较低的西洋参木质化程度较少，表面积比相对较大，因此皂甙的含量较高。根据这一实验结果，在实际的经营中，宜根据不同的商业要求，有目的地培育和选择不同的商品等级，以提高生物产量，达到最佳经济效益。

参 考 文 献

1 Yamaguchi H, Matsuura H, Kasai R. et al. *Chem Pham Bull* 1986; **34**: 28 2859

2 Kasai R, Yamaguchi H, Tanaka O. *J Chzromatog* 1987; **407**: 205

3 Yamaguchi H, Kasai R, Matsuura H. et al. *Chem Pharm Bull* 1989; (in press)

4 周志华; 章观德. 药学学报 1988; 23 (2): 137

HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS OF SAPONINS OF PANAX QUINQUEFOLIUM CULTIVATED IN YUNNAN, CHINA

Yang Chongren, Yao Rongcheng, Ruan Dechun,
Chen Zonglian, Yamaguchi Hirayuki*

*(Laboratory of Phytochemistry, Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming, China; *Central Research Laboratories, Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd., Hiroshima, Japan)*

Abstract Composition and contents of saponins of *Panax quinquefolium* cultivated in Yunnan, China; were analyzed by high-performance liquid chromatography(HPLC)on an N-18 ODS-column using aqueous acetonitrile containing KH_2PO_4 or H_3PO_4 as the mobile phase. flow rate: 1ml/min, detection wave length 202 nm, chart speed: 2.5 mm/min. Contents of the major saponins including ginsenoside Rbl, Rb2, Rc, Rd, Re, Rgl, Ro and malonyl saponins (malonyl gensenoside Rb1, Rb2, and Rc) were markedly different according to the age, time of harvest, commercial grades, and the underground parts of the plant.

Key words *Panax quinquefolium*; saponins; HPLC